

**ШИРОКОГЕНОМНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ ЯВЛЕНИЯ
ПОТЕРИ ГЕТЕРОЗИГОТНОСТИ В ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

М.М. Цыганов, И.В. Дерюшева, М.К. Ибрагимова

Научный руководитель: д.б.н. Н.В.Литвяков

¹НИИ онкологии, Томский НИМЦ, Россия, г. Томск, пер. Кооперативный 5, 634050

²Национальный исследовательский Томский государственный университет, Россия, г. Томск,
пр. Ленина, 36, 634050

E-mail: TsyganovMM@yandex.ru

**GENOMIC APPROACH IN THE RESEARCH PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF EFFECTS LOSS
OF HETEROZYGOSITY IN TUMOR TISSUE BREAST**

M.M. Tsyganov, I.V. Deryusheva, M.K. Ibragimova

Scientific Supervisor: Ph.D. N.V. Litviakov

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of Russian Academy of Sciences, Russia,
Tomsk, Kooperativny Street, 5, 634050

Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenina av., 36, 634050

E-mail: TsyganovMM@yandex.ru

Abstract. *One of the variability factors of malignant tumors, particularly breast cancer is a genetic variation due to gene polymorphism, and especially - the phenomenon of loss of heterozygosity (LOH). It has been shown that LOH in some genes could be a good prognostic marker. Thus, the aim of this work was genome-wide association study of loss of heterozygosity and Metastasis-free survival in breast cancer. The study involved 68 patients with breast cancer. To evaluate LOH status that was conducted by microarray analysis on high density DNA-chips made by firm Affymetrix CytoScanTM HD Array. 13 815 genes were evaluated in order to reveal loss of heterozygosity. The frequency of LOH varied from 0% to 63%. As a result of the associative analysis four genes EDA2R, PGK1, TAF9B and CYSLTR1 were determined, the presence of loss of heterozygosity that was associated with Metastasis-free survival. The presence of LOH in these genes is associated with low Metastasis-free survival.*

Актуальность. Для однонуклеотидных полиморфизмов (SNP – Single Nucleotide Polymorphism) в опухолевой ткани характерно, так называемое, явление аллельного имбаланса (АИ) и его частный случай - потеря гетерозиготности (Loss of heterozygote - LOH), при котором происходит потеря одного из аллелей гетерозиготного генотипа и происходит уменьшение детектируемых частот гетерозиготных генотипов по сравнению с геномной ДНК. В предыдущих исследованиях было показано, что АИ может быть сопряжен с прогнозом больных раком молочной железы [1].

Большинство исследований потери гетерозиготности, в опухоли молочной железы сосредоточено на изучение данного феномена в рамках одного или нескольких генов, и, как правило, связаны с малигнизацией клеток железы [2]. При этом, LOH практически не изучалось в широкогеномном формате. Таким образом, **целью данной работы** явилось широкогеномное исследование связи потери гетерозиготности в опухоли молочной железы с безметастатической выживаемостью.

Материалы и методы. В исследование были включены 68 больных РМЖ IIА–IIIВ стадии, с морфологически верифицированным диагнозом, в возрасте 28–68 лет. Все больные получали 2–4 курса неоадьювантной химиотерапии по схемам FAC, CAХ или монотерапию таксотером. После пациентам проводилась операция, затем 2 курса адьювантной химиотерапии по схеме FAC, а лучевая терапия и/или гормональное лечение назначались по показаниям. В качестве исследуемого материала были использованы биопсийные опухолевые образцы (~10 мм³), взятые до лечения под контролем УЗИ. ДНК выделяли из 68 образцов с помощью набора QIAamp DNA mini Kit (Qiagen, Germany). Для оценки статуса LOH проведен микроматричный анализ на ДНК-чипах высокой плотности фирмы Affymetrix CytoScan™ HD Array. Для обработки результатов микрочипирования использовали программу «Chromosome Analysis Suite 3.1» (Affymetrix, USA). Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA 8.0». Сравнение частот по качественным данным анализировали при помощи двухстороннего критерия Фишера. Для анализа безметастатической и общей выживаемости использовались кривые выживаемости, построенные по методу Каплана-Майера.

Результаты и обсуждение. На первом этапе была изучена частота LOH в 13 815 генах OMIM. Частота LOH в отдельных генах изменялась от 0% до 63%. Стоит отметить, что наибольшая частота встречаемости явления потери гетерозиготности характерна для генов 17 и X-хромосом. В 6, 7, 11 и 14 хромосомах есть обширные участки, в которых LOH не наблюдалось ни в одном из 68 обследованных случаев (Рисунок 1).

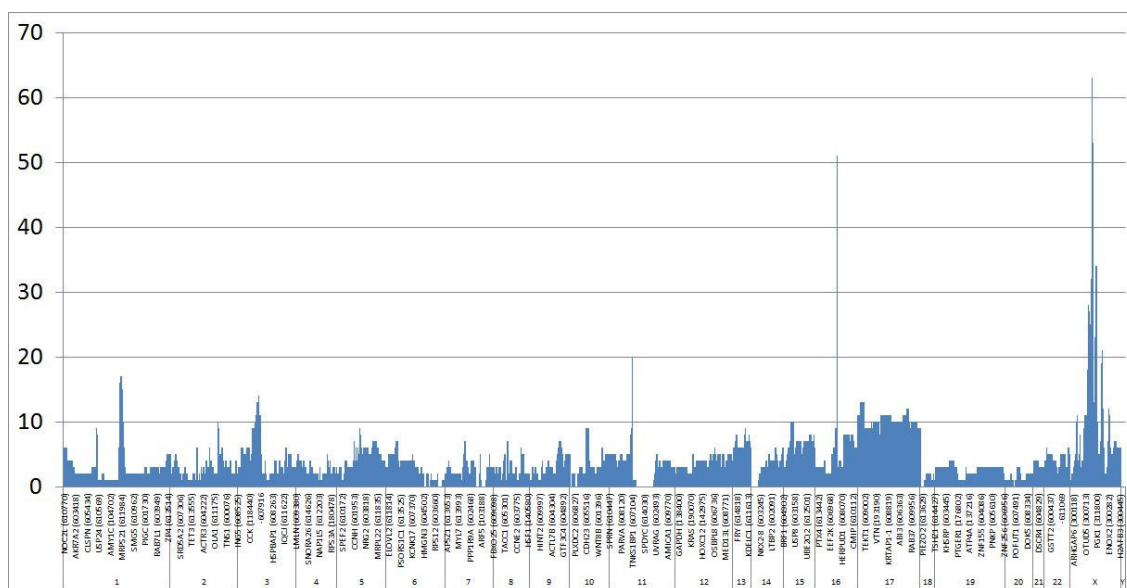


Рис. 1. Профиль встречаемости LOH в генах OMIM по локализации в хромосомах

На следующем этапе была исследована связь отдаленного метастазирования опухоли молочной железы с частотой LOH по всем генам OMIM. В результате проведенного исследования было установлено 7 таких генов: *FGD1*, *GNL3L*, *TRO*, *EDA2R*, *PGK1*, *TAF9B* и *CYSLTR1* (разность составили от 25,5 до 35,3%). После этого при помощи критерия Фишера была оценена связь наличия LOH с метастазированием. Она наблюдалась лишь у 4 из 7 генов: *EDA2R*, *PGK1*, *TAF9B* и *CYSLTR1*. И по методу Каплана-Майера у пациентов с наличием в опухоли молочной железы LOH данных генов

показатели безметастатической выживаемости статистически значимо ниже по сравнению с группой больных, у которых наблюдалась нормальное состояние данных генов (Рисунок 2).

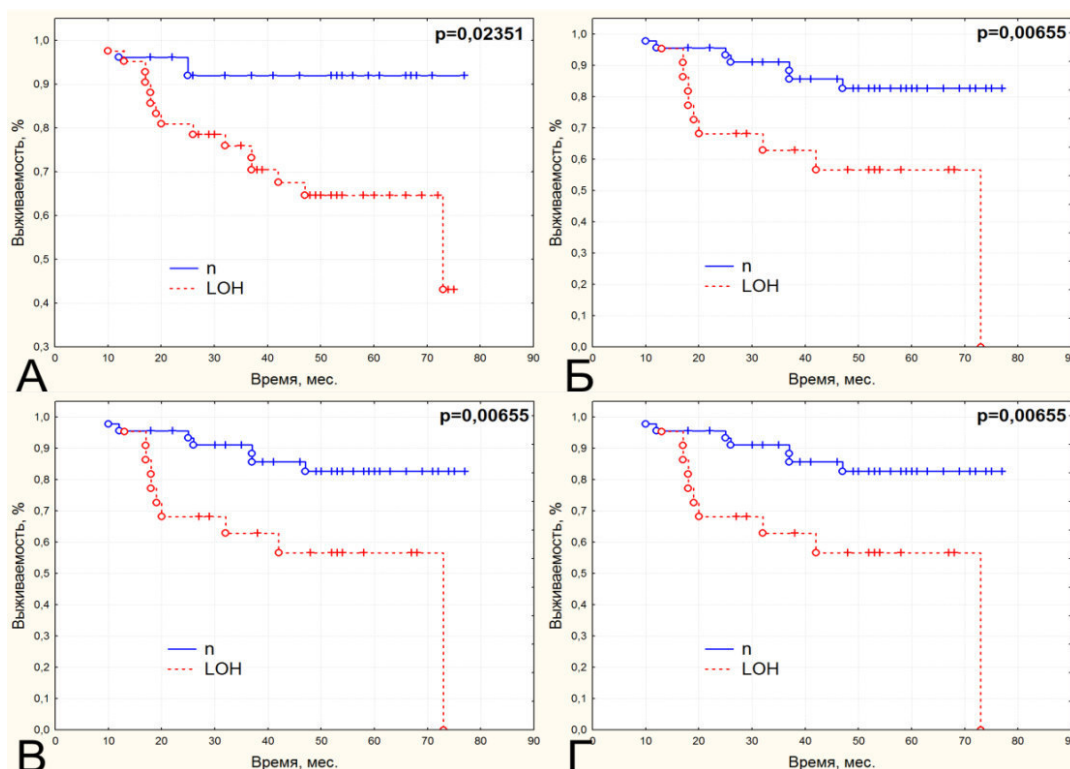


Рис. 2. Безметастатическая выживаемость больных РМЖ в зависимости от наличия потери гетерозиготности LOH: А – гена *EDA2R*; Б – гена *PGK1*; В – гена *TAF9B*; Г – гена *CYSLTR1*

Примечание: *p* – уровень статистической значимости по *log-rank test*

Стоит отметить тот факт, что все выявленные в ходе исследования гены локализованы в X хромосоме (<http://www.genecards.org/>). При этом ген *EDA2R* локализован в Xq12 длинного плеча хромосомы, тогда как все остальные гены *PGK1*, *TAF9B* и *CYSLTR1* в Xq21.1 длинного плеча X хромосомы.

Вывод. Таким образом, была показана связь наличия потери гетерозиготности в генах *EDA2R*, *PGK1*, *TAF9B* и *CYSLTR1* с безметастатической выживаемостью больных раком молочной железы, и это в дальнейшем, может быть использовано как маркер прогноза заболевания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Цыганов М.М., Ибрагимова М.К., Дерюшева И.В. Широкогеномное исследование аллельного имбаланса в опухоли молочной железы при проведении неoadъювантной химиотерапии //Перспективы развития фундаментальных наук: Сборник научных трудов XII Международной конференция студентов и молодых ученых. - Томск, 2015. - Т. 1. - С. 892-894.
2. Chen, Y., Chen, C. (2008) DNA copy number variation and loss of heterozygosity in relation to recurrence of and survival from head and neck squamous cell carcinoma: a review. *Head & neck*, no. 30, pp. 1361-1383.